

УО “ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ”

УДК 616.99:618.2/.3/043.3)

**Пашинская
Екатерина Сергеевна**

**ПОВРЕЖДЕНИЯ НАСЛЕДСТВЕННОГО АППАРАТА
СОМАТИЧЕСКИХ И ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК ХОЗЯИНА ПРИ
ТРИХИНЕЛЛЕЗЕ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ**

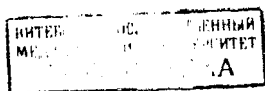
**Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

по специальности 03.02.11 – паразитология

Витебск – 2012

Работа выполнена в УО “Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет”

Научный руководитель:



49257a

Бекиш Владислав Янович,

доктор медицинских наук, профессор,
заведующий кафедрой медицинской
биологии и общей генетики УО “Витебский
государственный ордена Дружбы народов
медицинский университет”

Официальные оппоненты:

Бычкова Елизавета Игнатьевна,

доктор биологических наук, доцент,
заместитель Генерального директора ГНПО
“НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам” по
научной и инновационной работе

Библиотека ВГМУ



Цвирко Лидия Сергеевна,

доктор биологических наук, профессор,
проректор по учебной работе УО
“Полесский государственный университет”

Оппонирующая организация:

УО “Витебская государственная академия
ветеринарной медицины”

ВВЕДЕНИЕ

По данным ВОЗ из 51 миллиона человек, ежегодно умирающих в мире, более чем у 16 миллионов причиной смерти являются инфекционные и паразитарные заболевания (WHO, 2008). Трихинеллез – паразитарное заболевание широко распространенное в Республике Беларусь. По данным ГУ “Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья” на эндемичной по трихинеллезу территории (Беларусь) только по одной Гродненской области отмечено 14 семейно-групповых вспышек трихинеллеза (Веденьков А.Л. и соавт., 2010, 2011). Трихинеллы и продукты их жизнедеятельности обладают гено- и цитотоксическим воздействиями на соматические и генеративные клетки хозяина, что характеризуется увеличением количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов молекулы ДНК (Бекиш В.Я., 2003). Доказано также анеугенное и кластогенное влияние метаболитов паразита на клетки костного мозга хозяина (Бекиш В.Я., 2004). Трихинеллезная инвазия средней тяжести у мышей сопровождается окислительным стрессом в генеративных и соматических клетках самцов (Boczon K., 2000).

Не раскрыто негативное влияние трихинелл и их продуктов жизнедеятельности на течение беременности и развитие плода. Не изучены возможные гено- и цитотоксические эффекты в соматических и эмбриональных клетках, кластогенное и анеугенное воздействия, а также эмбриотоксическое воздействие трихинелл. Формирование окислительного стресса в соматических и эмбриональных клетках хозяина при экспериментальном трихинеллезе во время беременности ранее не рассматривалось. Не известно, возникают ли гено-, цито- и эмбриотоксические изменения в соматических и эмбриональных клетках хозяина при комбинированной терапии трихинеллеза. Изучение возможных мутагенных воздействий метаболитов трихинелл на наследственный аппарат соматических и эмбриональных клеток хозяина позволят выяснить механизмы патогенного влияния паразитов и разработать пути защиты генома млекопитающих и человека при трихинеллезе.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами (просектами) и темами. Диссертация выполнена в рамках научно-исследовательских работ УО “Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет” и ГНТП по темам “Секреторно-экскреторно-соматические продукты гельминтов как потенциальные мутагены и тератогены в системе паразит-хозяин” (Гос. рег. № 20072808, 2007-2011 гг.), “Изучить на основе нанотехнологий особенности патогенеза и разработать эффективные способы лечения и диагностики

трихинеллеза, описторхоза и трихоцефалеза человека” (тема-задания 03.01/11, Гос. рег. № 20114734, 2011-2015 гг.).

Цель исследования: выявить повреждения наследственного аппарата соматических клеток самок мышевидных грызунов и их эмбрионов при трихинеллезе в зависимости от стадии развития паразита и сроков беременности хозяина, при комбинированной терапии, а также установить генотоксические и цитотоксические изменения в соматических клетках человека до и после лечения трихинеллеза.

Задачи исследования:

1. Выявить генотоксический и цитотоксический эффекты в клетках костного мозга и эмбрионов, уровни предимплантационной и постимплантационной гибели зародышей у инвазированных трихинеллами беременных самок мышей при заражении до и после наступления беременности, возможное трансплацентарное проникновение личинок, а также уровни первичных повреждений ДНК, апоптоза в лимфоцитах периферической крови пациентов с диагнозом “трихинеллез”.

2. Определить эффект введения белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта личинок трихинеллы на цитогенетические изменения в костном мозге и эмбриональных клетках самок мышей при беременности, а также уровни предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов.

3. Установить изменение числа микроядродержащих клеток костного мозга самок мышей и их эмбрионов при экспериментальном трихинеллезе.

4. Выявить возможные изменения содержания продуктов перекисного окисления липидов, активность ферментов антиоксидантной защиты у эмбрионов хозяина при экспериментальном трихинеллезе во время беременности.

5. Исследовать развитие потомства от инвазированных трихинеллами самок крыс в постнатальном периоде жизни.

6. Определить генотоксические, цитотоксические и эмбриотоксические изменения в геноме самок мышей и их эмбрионов, концентрацию витаминов и микроэлементов в тканях зародышей при использовании специфической, патогенетической и антиоксидантной терапии экспериментального трихинеллеза; изучить изменения уровней первичных повреждений ДНК и апоптоза клеток до и после комбинированного лечения трихинеллеза человека.

Объекты исследования: трихинеллы (*Trichinella spiralis*) и их личинки, белковый секреторно-экскреторно-соматический продукт личинок *T. spiralis*; крысы линии Wistar, белые беспородные самки крыс и их эмбрионы, самки белых беспородных мышей и их эмбрионы; лимфоциты периферической крови доноров и лиц, заболевших трихинеллезом; антигельминтики альбендазол, мебендазол,

нестероидный противовоспалительный препарат ибупрофен, антигистаминный препарат фенкарол, витамины С, Е и β -каротин, селен.

Предметом исследования служили: генотоксические, цитотоксические и эмбриотоксические изменения в соматических и эмбриональных клетках; протекание свободнорадикальных процессов в них при воздействии метаболитов трихинелл и белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта из личинок *T. spiralis*; уровни первичных повреждений ДНК, апоптоза клеток млекопитающих и человека при специфической, патогенетической и антиоксидантной терапии трихинеллеза.

Положения, выносимые на защиту.

1. Метаболиты трихинелл при заражении до и после наступления беременности у мышей обладают генотоксическим, цитотоксическим и эмбриотоксическим воздействиями на организм хозяина и его эмбрионов к 14-му дню беременности, что характеризуется увеличением количества поврежденной ядерной ДНК в клетках костного мозга и эмбрионов, ростом числа апоптотических клеток, пред- и постимплантационной гибели, уменьшением средней массы эмбрионов и их краниокаудального размера. Личинки трихинелл могут преодолевать плацентарный барьер. Трихинеллезная инвазия сопровождается анеугенным и кластогенным воздействиями на соматические клетки самок беременных мышей и их эмбрионов, вызывая рост количества микроядродержащих клеток и увеличение размеров микроядер до средних и крупных. У лиц с диагнозом "трихинеллез" наблюдаются генотоксические и цитотоксические эффекты в лимфоцитах периферической крови.

2. Белковый секреторно-экскреторно-соматический продукт личинок *T. spiralis* обладает генотоксическим, цитотоксическим и эмбриотоксическим эффектами в соматических и эмбриональных клетках при его введении беременным крысам в раннем, позднем и плодном периодах развития эмбрионов. Эффекты характеризуются ростом поврежденной ДНК, числа апоптотических клеток, постимплантационной гибели, а также изменениями краниокаудального размера и средней массы эмбрионов.

3. При трихинеллезе развивается окислительный стресс в тканях эмбрионов самок крыс, который характеризуется увеличением концентраций продуктов ПОЛ; снижением активности ферментов-антиоксидантов с максимальной выраженностью этих изменений к 14-му дню инвазии. В тканях эмбрионов крыс, зараженных трихинеллами, наблюдается снижение концентраций витаминов А, С, Е, каротина, В₁ и микроэлементов Mn, Fe, Co, а также селена. Инвазия трихинеллами нарушает антенатальное развитие потомства, что характеризуется

снижением его численности, уменьшением массы тела и повышением индекса гибели крысят в постнатальном периоде.

4. Терапия экспериментального трихинеллеза альбендазолом или мебендазолом в сочетании с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов антиоксидантов С, Е и β -каротина с селеном эффективно защищает геном соматических и эмбриональных клеток хозяина от генотоксических, цитотоксических, эмбриотоксических эффектов инвазии в клетках костного мозга самок и их эмбрионов, нейтрализует дисбаланс витаминов и минералов в эмбриональных тканях. Комбинированное лечение трихинеллеза средней тяжести человека альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов С, Е, β -каротин с селеном приводит к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических лимфоцитов периферической крови до показателей доноров.

Личный вклад соискателя. Идея работы и ее методическое выполнение были предложены научным руководителем, доктором медицинских наук, профессором В.Я. Бекишем. Паразитологические, цитогенетические, биохимические исследования выполнены непосредственно диссертантом. Самостоятельно проведена статистическая, графическая обработка полученных данных. Сделаны публикации и написана диссертация.

В публикациях [1, 2, 3, 5, 22, 24, 25] представлены результаты исследований по изучению генотоксического, цитотоксического и эмбриотоксического, кластогенного и анеугенного эффектов паразита на самок мышевидных грызунов и их эмбрионов во время беременности, выполненных совместно с д.м.н., проф. В.Я. Бекишем; к.б.н., доц. В.В. Побяржиным. Вклад диссертанта составляет 98%. Изучение изменений генотоксического и цитотоксического воздействий трихинелл при комбинированной терапии пациентов с диагнозом “трихинеллез” проводились совместно с д.м.н., проф. В.Я. Бекишем; к.м.н., доц. Л.Э. Бекиш. Диссертанту в публикациях [7, 23] принадлежит анализ данных литературы и итогов собственных экспериментальных исследований. Вклад диссертанта 95%. Без соавторов опубликовано 2 работы [4, 6] в соответствии с требованиями пункта 18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь. Автором обоснована схема комбинированной терапии трихинеллеза человека, на основании чего разработана инструкция по применению “Комбинированный метод лечения трихинеллеза”. В научных публикациях, выполненных в соавторстве, диссертанту принадлежат выполнение экспериментов, анализ результатов и трактовка выводов.

Автор выражает искреннюю признательность научному руководителю, доктору медицинских наук, профессору В.Я. Бекишу, соавторам публикаций,

сотрудникам кафедр медицинской биологии и общей генетики, инфекционных болезней Гродненской и Гомельской инфекционных больниц, ЦНИЛ УО “Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет”, ЦНИЛ УО “Витебская государственная академия ветеринарной медицины” за методическую и консультативную помощь при выполнении работы.

Апробация результатов диссертации. Материалы диссертации докладывались на: 65-й, 66-й и 67-й научных сессиях университета “Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации” (Витебск, 2010, 2011, 2012); 62-й, 63-й, 64-й итоговых научно-практических конференциях студентов и молодых ученых “Актуальные вопросы современной медицины и фармации” (Витебск, 2010, 2011, 2012); VII Международной научно-практической конференции “Современные аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов человека, животных и растений” (Витебск, 2010); 11-й, 12-й и 13-й научных конференциях “Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями” во Всероссийском институте гельминтологии им. К.И. Скрябина (Москва, 2010, 2011, 2012); X и XI Международных конференциях “Студенческая медицинская наука XXI века” (Витебск, 2010, 2011), X-ой Международной научно-практической конференции молодых ученых “Аграрное производство и охрана природы” (Витебск, 2011).

Опубликованность результатов диссертации. Основные результаты диссертации опубликованы в соответствии с требованиями ВАК Беларуси в 7 научных статьях в журналах общим объемом 96,8 страницы или 4,47 авторских листа, из которых написаны лично автором 76,8 страницы или 3,6 авторских листа. Опубликовано также 17 статей в сборниках конференций и съездов (в том числе 3 за рубежом), 1 тезис докладов за рубежом суммарным объемом 53,9 страницы, или 3,6 листа, из которых авторских 48,12 страниц, или 3,23 листа.

Суммарный объем всех 25 публикаций составляет 151,4 страницы, или 8,07 листа, из них авторские – 124,92 страницы, или 6,83 листа (84,63 %).

Структура и объем диссертации. Диссертация написана на русском языке и состоит из введения, общей характеристики работы, 7 глав, заключения, библиографического списка, материалов внедрения. Диссертация изложена на 181 странице (без рисунков, списка использованных источников, приложений и материалов внедрения – 98 страниц). Работа иллюстрирована 66 рисунками, 2 таблицами диссертации и 22 таблицами приложения. Библиографический список включает 237 наименований, в том числе 92 русскоязычных, 145 иностранных источников и 25 публикации автора.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Аналитический обзор литературы. В главе изложены данные литературы о генотоксических, цитогенетических и эмбриотоксических аспектах взаимоотношений в системе паразит-хозяин при гельминтозах.

Материалы и методы исследований. Материалом для исследования служили: 120 крыс-самок линии Wistar, 180 беспородных крыс-самок массой 250-300 г трехмесячного возраста, а также 150 белых беспородных мышей-самок массой 18-20 г. Самцов крыс и мышей использовали только для получения беременности у самок. Исследовали периферическую кровь 37 человек, заболевших трихинеллезом в возрасте от 20 до 68 лет, 15 доноров в возрасте от 20 до 40 лет.

Для решения поставленных задач было выполнено 9 серий опытов, 8 из которых было выполнено на подопытных животных, 1 на крови больных трихинеллезом, который был направлен на изучение состояния генома при трихинеллезе у человека до и после комбинированного лечения заболевания. **В первой серии** опытов изучали гено- и цитотоксический эффекты в клетках костного мозга беременных самок мышей, а также эмбриотоксические изменения зародышей при заражении личинками трихинелл до наступления беременности на различных стадиях развития паразитов. **Во второй серии** опытов исследовали гено-, цито- и эмбриотоксические изменения у 30 самок белых беспородных мышей, инвазированных культурой личинок трихинелл после наступления беременности. **В третьей серии** опытов изучали возможные кластогенное и анеугенное влияния на наследственный аппарат клеток костного мозга самок мышей и их эмбрионов при трихинеллезе. **В четвертой серии** опытов исследовали гено-, цито-, эмбрио- и фетотоксический эффекты белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта (БСЭСР) личинок *T. spiralis* на самок крыс линии Wistar и их эмбрионов при его введении различных стадиях внутриутробного развития. **В пятой серии** опыта изучали изменения концентраций продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), активности ферментов антиоксидантного характера, а также возможное наличие личинок *T. spiralis* в эмбрионах самок крыс при моделировании экспериментального трихинеллеза. **В шестой серии** опытов исследовали изменение уровня содержания витаминов и микроэлементов в тканях эмбрионов самок крыс при трихинеллезе и после комбинированного лечения инвазии. **В седьмой серии** опытов изучали гено-, цито- и эмбриотоксический эффекты паразита при комбинированном лечении трихинеллеза. **В восьмой серии** опытов изучали антенатальное воздействие трихинеллезной инвазии на постнатальное развитие

потомства. В *девятой серии* опытов проводили изучение первичных повреждений ДНК, числа апоптотических клеток до и после комбинированного лечения трихинеллеза человека, включающем специфическую (мебендазол или альбендазол), патогенетическую (ибупрофен) и антиоксидантную (витамины С, Е, β -каротин с Se) терапии.

Получение инвазионной культуры личинок трихинелл и белкового секреторно-эксреторно-соматического продукта проводили по методу О.-Я.Л. Бекиша и соавт. (1982). Эмбриотоксические изменения у плодов самок крыс и мышей определяли с учетом рекомендаций Б.И. Любимова и соавт. (1998), Р.У. Хабриева и соавт. (2005) по экспериментальному (доклиническому) изучению репродуктивной токсичности новых фармакологических веществ. Показателями эмбриотоксичности служила пред- и постимплантационная гибель, общая задержка в развитии плодов. Изучение антенатального повреждающего действия трихинелл, регистрируемого в постнатальном периоде жизни, проводили в соответствии с рекомендациями по влиянию фармакологических препаратов на репродуктивную функцию животных Р.Г. Кузьмич и соавт. (2006). Метод проведения щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в различных типах клеток проводили по А.Д. Дурневу и соавт. (2006). Суспензии эмбриональных клеток получали по разработанному нами методу [8]. В каждой из 50 клеток учитывались следующие показатели генотоксичности: “длина хвоста кометы” в пикселях; процент ДНК в “хвосте кометы”; “момент хвоста”, вычисленный программой из “длины хвоста”, умноженной на процент ДНК в “хвосте кометы”. В качестве основного международно-принятого показателя генотоксического воздействия факторов среды использовали “момент хвоста” R. Tice et al. (2000). Для оценки цитотоксического воздействия метаболитов личинок трихинелл в 100 клетках определяли процент апоптотических, имеющих малый размер ядра и широко разбросанный во все стороны “хвост кометы”. Метод микроядерного анализа проводили по В.Я. Бекишу и соавт. (2002) в собственной модификации [17]. Определение активностей каталазы проводили по методу М.А. Корольюк и соавт. (1988). Определение накопления диеновых конъюгатов (ДК) осуществляли по методу В.Б. Гаврилова и соавт. (1988). Определение накопления малонового диальдегида (МДА) проводили по методу Л.И. Андреевой и соавт. (1998). Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) выполняли по С. Beauchamp et al. (1971). Оценку изменения уровней витаминов в тканях эмбрионов проводили в соответствии с системой капиллярного электрофореза, основами метода, примерами использования систем капиллярного электрофореза “Капель-103, 104, 105” (2001). Изменения содержания микроэлементов и селена в тканях

эмбрионов выявляли соответственно рекомендациям по оценке обеспеченности организма сельскохозяйственных животных минеральными веществами Б.И. Антонова и соавт. (1991).

Статистическая обработка Статистическую обработку полученных цифровых данных проводили с помощью компьютерных программ Statistica v. 6.0 для "Microsoft Excel 2003". На первом этапе статистического анализа была проведена оценка распределения изучаемых признаков [80]. Было принято решение использовать параметрические методы статистики, т.к. значения признаков в каждой из сравниваемых групп имели нормальное распределение и дисперсии распределений признаков в сравниваемых группах равны. По полученным результатам при $p < 0,05$ была принята нулевая гипотеза. Поэтому рассчитывали среднюю арифметическую и ее стандартное отклонение ($M \pm SD$). Достоверность выявленных различий определяли по t-критерию Стьюдента-Фишера. Различия считали достоверными при уровне значимости менее 0,05 ($p < 0,05$). Полученные данные сравнивали с показателями контрольных групп.

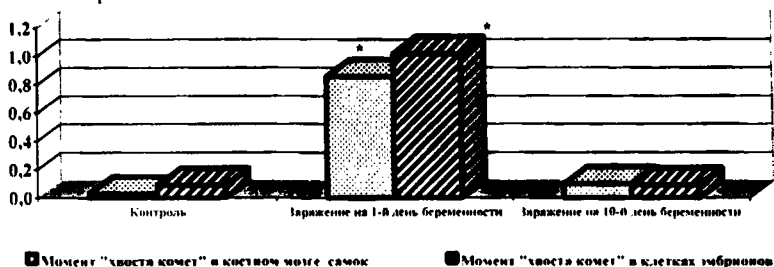
Объем проведенных исследований. Для решения поставленных цели и задач выполнен следующий объем исследований: получено 618 микропрепаратов "ДНК-комет", в которых изучено 61800 клеток; 160 микропрепаратов микроядерного теста; проведено 580 биохимических исследований; 27 исследований предимплантационной и постимплантационной гибели эмбрионов и 5158 исследований постнатального развития потомства; сделана статистическая обработка результатов.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Повреждения ядерной ДНК соматических клеток самок и их эмбрионов при трихинеллезе.

При случае самок мышей на 4-й день после заражения генотоксический эффект в костном мозге инвазированных самок к 18-му дню инвазии сопровождается только превышением длины "хвостов комет" в 1,3 раза и увеличением показателя процента ДНК в "хвостах комет" в 1,4 раза без изменения "момента хвоста комет". При скрепчивании на 13-й (миграционная стадия) и 21-й (мышечная стадия) дни после заражения в клетках костного мозга самок наблюдается повреждение наследственного аппарата, которое характеризуется ростом в 4,3 и 3,4 раза процента ДНК в "хвостах комет" и в 2,3 и 1,9 раза длины "хвостов комет", а также в 10,7 и 7,7 раза "момента хвоста комет". При моделировании трихинеллеза с 1-го дня беременности наблюдаются

генотоксические изменения как в клетках костного мозга хозяина, так и в клетках эмбрионов на 14-й день от заражения (рисунок 1). Синхронно отмечается повышение длины “хвостов комет” и процента ДНК в “хвостах комет” в клетках костного мозга беременных самок и их эмбрионов в 4,2–5,9 раза по сравнению с показателем контроля. “Момент хвоста комет” в клетках костного мозга самок и эмбрионов в 9,5 и 11,3 раз соответственно превышали контрольные величины. При заражении животных личинками трихинелл с 10-го дня беременности не наблюдается генотоксического эффекта, как в клетках костного мозга хозяина, так и в клетках эмбрионов.



Примечание: * - достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0.05$)

Рисунок 1 – “Момент хвоста” клеток костного мозга самок и их эмбрионов при заражении личинками *T. spiralis* после оплодотворения

БСЭСП личинок *T. spiralis* обладает генотоксическим эффектом в клетках костного мозга и эмбрионов при внутрибрюшинном введении беременным самкам крыс в раннем, позднем и плодном периодах развития зародышей, который характеризуется повышением процента поврежденной ДНК в 2,12–7,5 раза и “момента хвоста комет” в 3,5–11,4 раза.

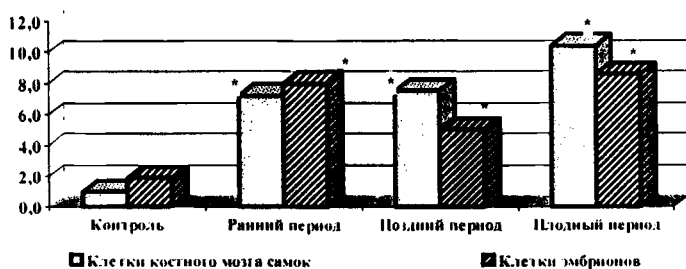
При исследовании анеугенного и кластогенного воздействий личинок трихинелл выяснено, что они вызывают достоверное увеличение количества микроядер в полихроматофильных эритроцитах в костном мозге самок на 4-й, 12-й и на 14-й дни инвазии в 2,1–3,57 раз. Достоверное увеличение количества микроядер в нормохроматофильных эритроцитах костного мозга мышей выявлено на 12-й день беременности, которое составило $0,5 \pm 0,53$ и на 14-й день беременности – $0,7 \pm 0,48$. Достоверное повышение микроядеросодержащих эмбриональных клеток наблюдается на 14-й день беременности, что в 1,88 раза было выше по сравнению с контролем.

При изучении генотоксического эффекта трихинеллезной инвазии на наследственный аппарат соматических клеток человека было установлено что, “длина хвостов комет” лимфоцитов периферической крови пациентов с трихинеллезом была достоверно выше контрольного уровня в 7,6 раз, процент ДНК в “хвостах комет” (9,84 %) – в 75,7 раз, “момент хвоста” – в 21 раз.

Цитотоксическое воздействие трихинелл на соматические клетки хозяина и эмбрионов хозяина.

Скращивание мышей на 13-й (миграционная стадия) и 21-й (мышечная стадия) дни после заражения (27-й и 35-й дни исследования) показало, что в наследственном аппарате клеток костного мозга самок уровень цитотоксичности возрос в 11 и 7 раз соответственно. При заражении самок мышей с 1-го дня беременности к 14-му дню эксперимента наблюдается цитотоксический эффект как в клетках костного мозга хозяина, так и в клетках эмбрионов, который характеризовался ростом апоптотических клеток в 5,8 и 9,9 раза соответственно. Заражение животных личинками трихинелл с 10-го дня беременности не показало никаких цитотоксических изменений в клетках костного мозга самок и в клетках их эмбрионов к 4-му дню развития паразита.

В костном мозге самок крыс и клетках их эмбрионов после инъекций БСЭСП показатель цитотоксичности достоверно превышал контрольные величины на всех этапах изучения. Это характеризуется ростом числа апоптотических клеток в 2,63-10,40 раза (рисунок 2).



Примечание: * - достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0.05$)

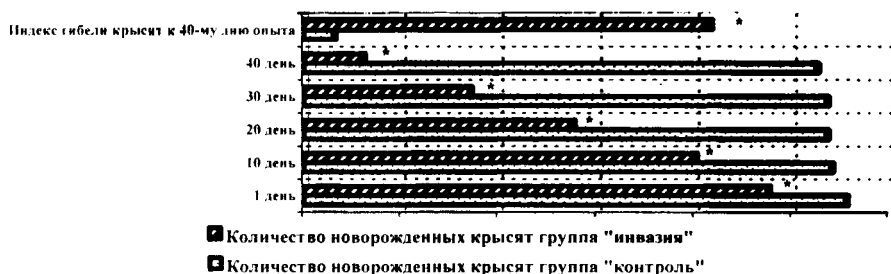
Рисунок 2 – Процент апоптотических клеток костного мозга самок и их эмбрионов при внутрибрюшинном введении БСЭСП личинок *T. spiralis*

При исследовании цитотоксического воздействия трихинеллезной инвазии (средняя степень тяжести) на клетки лимфоцитов периферической крови человека выяснено, что процент апоптотических клеток превысил показатели группы негативного контроля в 38,8 раза.

Эмбриотоксическое воздействие трихинелл во время беременности хозяина.

Трихинеллез характеризуется эмбриотоксическим эффектом в виде роста предимплантационной гибели до 98-99 % к 14-му дню беременности мышей при скрещивании самок на 4-й (кишечная стадия), 10-й (миграционная стадия) и 21-й (мышечная стадия) дни после заражения

Метаболиты половозрелых трихинелл и их личинок обладают эмбриотоксическим воздействием при заражении на 1-й и 10-й дни беременности (миграционная стадия и кишечная стадии развития паразита) самок белых беспородных мышей, которое характеризуется повышением предимплантационной гибели эмбрионов в 12 и 6 раз, а постимплантационной смертности в 6 и 5 раз соответственно. Эмбриотоксический эффект трихинелл сопровождается уменьшением средней массы эмбрионов и краниокаудального размера в 1,07-1,60 раза по отношению к контрольным показателям, а также плацентарным проникновением



Примечание: * - достоверное отличие от данных контроля (при $p < 0.05$).

Рисунок 3 – Изменение численности и индекса гибели крысят в постнатальном периоде жизни при трихинеллезе

личинок в эмбрионы самок крыс. Выяснено, что метаболиты половозрелых трихинелл и их личинок обладает эмбриотоксическим воздействием, которое характеризуется нарушением антенатального развития потомства. Наблюдается

снижение численности и массы тела крысят, приводящее к повышению индекса гибели в 13,83 раза в постнатальном периоде.

Внутрибрюшинное введение беременным самкам БСЭСП личинок *T. spiralis* в раннем, позднем и плодном периодах формирования эмбрионов приводит к эмбрио- и фетотоксическому эффектам. Это характеризует повышение уровня постимплантационной гибели в 6,4-10 раз. Эмбриотоксический эффект в раннем периоде формирования зародышей сопровождается понижением средней массы в 1,5 раза и уменьшением среднего краниокаудального размера в 1,3 раза. Инъекции БСЭСП *T. spiralis* беременным самкам в позднем периоде формирования плодов приводят к увеличению средней массы эмбрионов в 2,69 раз и среднего краниокаудального размера в 1,19 раза.

Окислительный стресс в эмбриональных клетках хозяина при экспериментальном трихинеллезе.

При исследовании нарушения процессов ПОЛ и активности ферментов антиоксидантного характера в тканях эмбрионов инвазированных самок крыс было обнаружено, что трихинеллезная инвазия сопровождается окислительным стрессом в тканях эмбрионов самок крыс, который характеризуется повышением уровня ДК на 63,12 % и МДА на 71,32 %, а так же снижением активности каталазы на 46,62 %, СОД на 36,47 %.

При заражении инвазионной культурой личинок трихинелл беременных самок крыс с 1-го дня беременности в тканях их эмбрионов наблюдается снижение содержания витаминов: А – в 9,66 раза, С в 1,79 раза, Е – в 1,63 раза, В₁ – в 1,29 раза, провитамина каротина – в 9,75 раза Мп в 1,37 раза, Fe – в 7,22 раза, Со – в 1,43 раза, Se – в 3,33 раза по сравнению с контрольной группой.

Генотоксический, цитотоксический и эмбриотоксический эффекты при комбинированном лечении трихинеллеза

Трехкратное применение альбендазола либо мебендазола для терапии трихинеллеза у беременных самок крыс не снижает гено- и цитотоксических эффектов инвазии в клетках костного мозга и эмбрионов и приводит к достоверному повышению как пред- так и постимплантационной гибели эмбрионов в сравнении с группами интактного контроля и зараженных не леченных животных. Так же в тканях эмбрионов наблюдается снижение уровня витаминов и микроэлементов А, Е, С, В₁, каротина, марганца, железа, кобальта, селена как по отношению к контролю, так и к группе зараженных животных. Лечение трихинеллеза одним из антигельминтиков в сочетании с фенкаролом не

снижает показатели гено- и цитотоксического воздействия паразитов на клетки костного мозга и эмбрионов, которые превышают результаты группы интактного контроля и группы самок, инвазированных личинками трихинелл, но не получавшей терапии. Терапия одним из антигельминтиков в сочетании с ибупрофеном приводит к достоверному снижению показателей цитотоксичности в клетках костного мозга крыс и их эмбрионов до уровня интактного контроля, но не уменьшает рост щелочно-лабильных сайтов, одноцепочечных разрывов ядерной ДНК, что является показателем генотоксического эффекта инвазии. Применение одного из антигельминтиков (альбендазол или мебендазол) в сочетании с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов антиоксидантного характера снижает гено- и цитотоксические эффекты в соматических и эмбриональных клетках хозяина, нейтрализует дисбаланс витаминов и минералов в эмбриональных тканях, а так же нормализует уровни пред- и постимплантационной гибели до показателей интактного контроля.

Применение мебендазола или альбендазола в течение 14 дней для терапии трихинеллеза средней тяжести приводит к снижению гено- и цитотоксических эффектов в лимфоцитах крови пациентов, но эти величины достоверно превышают показатели доноров крови (таблица 1). Применение для лечения

Таблица 1 – Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток лимфоцитов периферической крови пациентов с трихинеллезом средней тяжести до и после лечения (M \pm SD)

Группа исследований	n	Исследуемый показатель		
		Процент ДНК в "хвостах комет"	"Момент хвоста"	Процент апоптотических клеток
Доноры крови	15	0.13 \pm 0.02	0.10 \pm 0.02	0.21 \pm 0.04
Трихинеллез средней тяжести	31	9.84 \pm 0.91*	2.10 \pm 0.44*	8.15 \pm 1.75*
Лечение мебендазолом	8	6.78 \pm 1.42**	1.34 \pm 0.52**	4.34 \pm 0.78**
Лечение альбендазолом	7	5.43 \pm 0.17**	1.23 \pm 0.34*	5.43 \pm 0.14**
Лечение мебендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se	8	3.13 \pm 0.42** ^{ab}	0.79 \pm 0.14** ^a	0.32 \pm 0.14** ^a
Лечение альбендазолом с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se	8	0.16 \pm 0.12** ^{ab}	0.09 \pm 0.03** ^{ab}	0.20 \pm 0.20** ^{ab}

мебендазола в течение 7 дней с ибупрофеном и комплексом витаминов с Se не может полностью снизить генотоксический эффект инвазии трихинеллами в

лимфоцитах человека. Это характеризуется повышением показателей щелочного гель-электрофореза изолированных клеток по сравнению с данными контроля. Комбинированное лечение альбендазолом (7 дней) с ибупрофеном (5 дней) и комплексом витаминов с Se (7 дней) людей с диагнозом “трихинеллез” средней степени тяжести служит эффективным способом защиты генома человека, так как приводит к снижению уровней первичных повреждений ДНК и числа апоптотических клеток до показателей доноров крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

На основании проведенных экспериментальных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Метаболиты трихинелл во время беременности хозяина обладают генотоксическим и цитотоксическим воздействиями на соматические и эмбриональные клетки, вызывая увеличение количества однопочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга на 7 % и в клетках эмбрионов на 8,24 %, числа апоптотических клеток в 5,8 и 9,9 раза при заражении трихинеллами на 1-й день после оплодотворения к 14-му дню инвазии. При скрещивании самок мышевидных грызунов на миграционной и мышечной стадиях инвазии к 27-му и 35-му дням после заражения наблюдается увеличение количества поврежденной ДНК в клетках костного мозга в 10,7 и 7,7 раза и числа апоптотических клеток в 11 и 7 раз ($p < 0,01$). При заражении трихинеллами в костном мозге беременных животных к 12-му и 14-му дням развития паразита отмечается повышение числа полихроматофильных эритроцитов с микроядрами в 2,1–3,57 раза с 44 % и 24% ростом размеров микроядер до крупных и средних за счет анеугенного воздействия паразита. Количество микроядродержащих нормохроматофильных эритроцитов костного мозга самок увеличивается на 100% к 12-му и 14-му дням инвазии со 100% содержанием мелких микроядер, а клеток эмбрионов с микроядрами возрастает в 1,18 раза к 14 дню исследования ($p < 0,02$) при 100% содержании мелких микроядер за счет кластогенного воздействия паразитов. Трихинеллез средней тяжести у человека сопровождается генотоксическим и цитотоксическим эффектами в лимфоцитах периферической крови, который характеризуется ростом поврежденной ядерной ДНК до 9,8 % и числа апоптотических клеток лимфоцитов периферической крови в 38,8 раза ($p < 0,01$) [1, 2, 5, 7–10, 15, 17, 18, 21–24].

2. Секреторно-экскреторные продукты половозрелых трихинелл и их личинок обладают эмбриотоксическим воздействием к 14-му дню беременности

самок мышевидных грызунов, которое усугубляется трансплацентарным проникновением личинок в эмбрионы самок крыс. При заражении животных на 1-ый и 10-ый дни беременности наблюдается повышение пред- и постимплантационной гибели эмбрионов в 5–12 раз, уменьшение средней массы эмбрионов и краниокаудального размера в 1,07–1,60 раза. Скрещивание самок мышей на кишечной, миграционной стадиях развития паразита характеризуется ростом предимплантационной гибели эмбрионов до 98–99 % ($p<0,01$). Метаболиты трихинелл нарушают антенатальное развитие потомства мышевидных грызунов, приводя к снижению его численности при рождении в 1,16 раз, массы тела новорожденных крысят как к 1-му дню после рождения, так и к 40-му дню опыта – в 1,62 и 1,73 раз, и повышают индекс гибели крысят в постнатальном периоде в 13,83 раза ($p<0,01$) [1, 5, 14, 24].

3. Белковый секреторно-эксреторно-соматический продукт личинок *T. spiralis* обладает генотоксическим и цитотоксическим эффектами на клетки костного мозга беременных самок крыс и их эмбрионов при его введении в раннем, позднем и плодном периодах развития зародышей. Эти эффекты характеризуются повышением количества однопочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в 2,1–7,5 раз и ростом числа апоптотических клеток в 2,6–10,4 раза. Эмбриотоксический и фетотоксический эффекты белкового секреторно-эксреторно-соматического продукта личинок *T. spiralis* при его введении в раннем, позднем и плодном периодах характеризуются повышением в 6,4–10 раз уровня постимплантационной гибели плодов, а так же снижением средней массы эмбрионов в 1,5 раза, краниокаудального размера в 1,3 раза в раннем периоде развития и увеличением средней массы эмбрионов в 2,69 раза, краниокаудального размера в 1,19 раза в позднем периоде ($p<0,01$) [4, 11–13, 15, 16, 25].

4. Трихинеллезная инвазия сопровождается окислительным стрессом в тканях эмбрионов самок крыс, который характеризуется повышением уровня ДК на 63,12 % и МДА на 71,32 %, а также снижением активности каталазы на 46,62 %, СОД на 36,47 % ($p<0,01$) [6, 14, 20].

5. Трехкратное применение альбендазола либо мебендазола для терапии трихинеллеза у беременных самок крыс не снижает генотоксических и цитотоксических эффектов инвазии в клетках костного мозга и эмбрионов, а также приводит к достоверному повышению как предимплантационной гибели (до 21,9% – 33%), так и постимплантационной гибели эмбрионов (в 13,45–25 раз), снижению уровней в тканях эмбрионов витаминов (А, С, Е, В₁, провитамина каротина) в 1,91–58 раз и микроэлементов (марганец, железо, кобальт, селен) в

1,66–10 раз по отношению к интактному контролю ($p < 0,01$). Терапия экспериментального трихинеллеза альбендазолом или мебендазолом в сочетании с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов с селеном снижает генотоксический и цитотоксический эффекты в соматических и эмбриональных клетках хозяина до показателей интактного контроля, нейтрализует дисбаланс витаминов и минералов в эмбриональных тканях, что является эффективным способом защиты генома соматических и эмбриональных клеток инвазированных беременных крыс [3, 6, 19, 20].

6. Применение мебендазола или альбендазола в течение 14 дней для терапии трихинеллеза средней тяжести приводит к снижению генотоксических и цитотоксических эффектов в лимфоцитах крови пациентов, однако их показатели достоверно превышают показатели доноров крови. Комбинированное лечение альбендазолом (7 дней) с ибупрофеном (5 дней) и комплексом витаминов с селеном (7 дней) заболевших трихинеллезом средней степени тяжести служит эффективным способом защиты генома человека, так как приводит к снижению уровней первичных повреждений ДНК и апоптотических клеток до показателей доноров крови [7, 22, 23].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Полученные данные позволяют уточнить механизмы патогенеза трихинеллеза во время беременности хозяина на молекулярно-генетическом уровне. Трихинеллез у мышевидных грызунов и человека может сопровождаться возможными генотоксическими, цитотоксическими и эмбриотоксическими эффектами в соматических и эмбриональных клетках.

2. Результаты исследований внедрены в учебный процесс при чтении лекций и проведении лабораторных занятий в УО “ВГМУ” и УО “ГГМУ” на кафедрах медицинской биологии и общей генетики по разделу “Медицинская паразитология”, в УО “ВГМУ” на кафедре цитологии, гистологии и эмбриологии по разделу “Эмбриология”, УО “ВГМУ” на кафедре биологии, УО “ГрГМУ” на кафедрах медицинской биологии и инфекционных болезней, а также в УО “ВГАВМ” на кафедре паразитологии и инвазионных болезней животных по разделу “Паразитарные болезни”.

3. Для защиты наследственного аппарата соматических клеток больных трихинеллезом средней и тяжелой степени тяжести от генотоксического и цитотоксического воздействия метаболитов паразитов необходимо применять терапию альбендазолом совместно с ибупрофеном и витаминным комплексом, содержащим витамины С, Е и β -каротин с селеном, что обосновано схемой комбинированной терапии трихинеллеза человека. Так же на основе этого

разработана инструкция по применению на “Комбинированный метод лечения трихинеллеза”.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ

Статьи, опубликованные в научных изданиях, включенных в перечень ВАК Республики Беларусь

1. Воздействие трихинеллёзной инвазии на геном хозяина при беременности / Е.С. Пашинская, В.Я. Бекиш, О.-Я.Л. Бекиш, В.В. Побяржин // Вестн. ВГМУ. – 2009. – Т. 8, № 4. – С. 144–152.

2. Воздействие паразитов на организм млекопитающих и человека при беременности / В.Я. Бекиш, О.-Я.Л. Бекиш, В.В. Зорина, Е.С. Пашинская, Л.Э. Бекиш, В.В. Побяржин // Вестн. ВГМУ. – 2010. – Т. 9, № 2. – С. 6–13.

3. Пашинская, Е.С. Генотоксический, цитотоксический и эмбриотоксический эффекты трихинеллеза при комбинированном лечении инвазии хозяина во время беременности / Е.С. Пашинская, В.Я. Бекиш // Вестн. ВГМУ. – 2011. – Т. 10, № 2. – С. 103–112.

4. Пашинская, Е.С. Влияние белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта личинок трихинелл на наследственный аппарат клеток самок крыс и их эмбрионов / Е.С. Пашинская // Ученые Записки УО “Витебская ордена “Знак Почета” гос. акад. ветеринар. медицины”. – 2011. – Т. 47, Вып. 1. – С. 103–105.

5. Пашинская Е.С. Эмбриотоксические и цитогенетические изменения у беременных мышевидных грызунов при трихинеллезе / Е.С. Пашинская, В.Я. Бекиш // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біялаг. навук. – 2012. – № 2. – С. 59–63.

6. Пашинская Е.С. Окислительный стресс и изменение содержания микроэлементов в тканях эмбрионов самок крыс при экспериментальном трихинеллезе / Е.С. Пашинская // Вестн. ВГМУ. – 2012. – Т.11, № 2. – С. 109–115.

7. Особенности комбинированного лечения трихинеллеза/ Е.С. Пашинская, Л.Э. Бекиш, В.М.Семенов, В.Я. Бекиш, В.В. Зорина // Вестн. ВГМУ. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 108–109.

Статьи в сборниках научных трудов и материалов конференций

8. Применение щелочного гель-электрофореза изолированных клеток в эмбриональных тканях мышей / Е.С. Пашинская, В.В. Зорина, В.Я. Бекиш, В.В. Побяржин // Достижения фундам., клин. медицины и фармации: материалы 62

научн. сессии УО “ВГМУ”, Витебск, 22–23 марта 2007 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2007. – С. 163–166.

9. Пашинская, Е.С. Генотоксическое и цитотоксическое воздействие трихинеллёзной инвазии на наследственный аппарат клеток эмбрионов и соматические клетки беременных мышей / Е.С. Пашинская, Е.Ю. Маханькова // Студенческая медицинская наука XXI века: матер. VIII Международной конференции, Витебск, 13–14 нояб. 2008 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: – Витебск, 2008. – С. 86–89.

10. Пашинская, Е.С. Показатели метода ДНК-комет в эмбриональных и соматических клетках мышей при трихинеллезе / Е.С. Пашинская, В.В. Побяржин, В.Я. Бекиш // Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: матер. 64 юбил. науч. сессии “ВГМУ”, посвящ. 75 летию его образования, Витебск, 26–27 марта 2009 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2009. – С. 580–582.

11. Пашинская, Е.С. Эмбриотоксический эффект белкового секреторно-эксреторно-соматического продукта личинок трихинелл на различных стадиях развития крыс при сенсибилизации / Е.С. Пашинская, В.В. Побяржин // Достижения фундам., клин., медицины и фармации: матер. 65 науч. сессии “ВГМУ”, Витебск, 24–25 марта 2010 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2010. – С. 500–502.

12. Пашинская, Е.С. Влияние сенсибилизации белковым секреторно-эксреторно-соматическим продуктом личинок трихинелл на наследственный аппарат клеток самок крыс и их эмбрионов / Е.С. Пашинская // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: матер. 62 науч.-практ. конференции студентов и молодых ученых, Витебск, 22–23 апр. 2010 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2010. – С. 278–280.

13. Пашинская, Е.С. Воздействие белкового секреторно-эксреторно-соматического продукта личинок трихинелл на беременных самок крыс и их эмбрионы / Е.С. Пашинская, В.В. Побяржин // Соврем. аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов человека, животных и растений: труды VII Междунар. научн.-практ. конф., под ред. В.Я. Бекиша. – Витебск, 2010. – С. 134–141.

14. Пашинская, Е.С. Формирование окислительного стресса в клетках эмбрионов инвазированных трихинеллами крыс во время беременности / Е.С. Пашинская, В.Я. Бекиш // Соврем. аспекты патогенеза, клиники, диагностики, лечения и профилактики протозоозов, гельминтозов и арахноэнтомозов человека,

животных и растений: труды VII Междунар. науч.-практ. конф., под ред. В. Я. Бекиша. – Витебск, 2010. – С. 149–151.

15. Пашинская, Е. С. Воздействие трихинелл и их продуктов жизнедеятельности на геном хозяина во время беременности / Е.С. Пашинская // Студенческая медицинская наука XXI в.: матер. X Междунар. конф., Витебск, 4–5 нояб. 2010 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2010. – С. 206–207.

16. Пашинская, Е.С. Влияние белкового секреторно-экскреторно-соматического продукта личинок трихинелл на соматические клетки самок крыс и их эмбрионы на стадиях раннего органогенеза при сенсибилизации / Е.С. Пашинская, В.В. Побяржин, В.Я. Бекиш // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями: матер. докл. науч. конф., Москва, 18–20 мая 2010 г. / Рос. акад. с.-х. наук, общ. гельминтол. им К.И. Скрыбина, всерос. институт гельминтолог. им К.И. Скрыбина; редкол.: А.В. Успенский [и др.]. – М., 2010. – Вып. 11. – С. 353–356.

17. Пашинская, Е.С. Применение микроядерного теста для определения кластогенных и анеугенных нарушений в эмбриональных клетках / Е.С. Пашинская, В.В. Побяржин // Достижения фундам., клинической, медицины и фармации: матер. 66 науч. сессии сотр. ун-та, Витебск, 28–28 янв. 2011 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2011. – С. 149–150.

18. Пашинская, Е.С. Кластогенные и анеугенные нарушения в костном мозге самок мышей и их эмбрионов при трихинеллезе / Е.С. Пашинская // Актуальные вопросы соврем. медицины и фармации: матер. 63 науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 21–22 апр. 2011 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2011. – С. 71–72.

19. Пашинская, Е.С. Экспериментальная разработка эффективного способа лечения трихинеллеза при беременности / Е.С. Пашинская // “Аграрное производство и охрана природы”: матер. X Междунар. науч.-практ. конф., ВГАВМ, Витебск, 26–27 мая 2011 г.; редкол. А.И. Ятусевич [и др.]. – Витебск, 2011. – С. 126–127.

20. Пашинская, Е.С. Изменение уровней витаминов и микроэлементов в тканях эмбрионов самок крыс при терапии экспериментального трихинеллеза / Е.С. Пашинская // Студенческая медицинская наука XXI в.: матер. IX Междунар. конф., Витебск, 3–4 нояб. 2011 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2011. – С. 333–334.

21. Пашинская, Е.С. Применение микроядерного анализа для определения кластогенных и анеугенных нарушений в костном мозге самок мышей и клетках их эмбрионов при трихинеллезе / Е.С. Пашинская // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями: матер. докл. науч. конф Москва, 17–19 мая 2011 г. / Рос. акад. сельскохоз наук, общ. гельминтол. им К.И. Скрыбина, всеросс. ин-т гельминтолог. им К.И. Скрыбина; редкол.: А.В. Успенский [и др.]. – М., 2011. – Вып. 12. – С. 387–390.

22. Генотоксический и цитотоксический эффекты при комбинированном лечении инвазии трихинеллами у человека / Е.С. Пашинская, В.Я. Бекиш, Л.Э. Бекиш, В.В. Зорина // Достижения фундам., клин., медицины и фармации: материалы 66 науч. сессии сотр. ун-та, Витебск, 2–3 февр. 2012 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2012. – С. 103–104.

23. Бекиш, В.Я. Комбинированная терапия трихинеллеза человека альбендазолом с ибупрофеном и витаминным антиоксидантным комплексом с селеном / В.Я. Бекиш, Л.Э. Бекиш, Е.С. Пашинская // Теория и практика борьбы с паразитарными заболеваниями: матер. докл. науч. конф Москва, 16–18 мая 2012 г. / Рос. акад. сельскохоз наук, общ. гельминтол. им К.И. Скрыбина, всеросс. ин-т гельминтолог. им К.И. Скрыбина; редкол.: А.В. Успенский [и др.]. – М., 2012. – Вып. 13. – С.37–40.

24. Пашинская, Е.С. Эмбриотоксический эффект инвазии *Trichinella spiralis* при комбинированном лечении хозяина во время беременности / Е.С. Пашинская, И.А. Логишинец, В.В. Побяржин // Актуальные вопросы современной медицины и фармации: матер. 64-ой научн.-практ. конф. студентов и молодых ученых, Витебск, 17-18 апр. 2012 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: С.А. Сушков [и др.]. – Витебск, 2012. – С.141–143.

Тезисы докладов в сборниках трудов научных конференций

25. Пашинская, Е.С. Генотоксический, цитотоксический, эмбриотоксический и фетотоксический эффекты у крыс после введения белкового секреторно-экскреторно-соматического продуктов личинок трихинелл / Е.С. Пашинская // Тезисы первого конгресса евро-азиатского об-ва по инфекционным болезням. – СПб.– 2010. – Т 2, № 4. – С. 98.



РЭЗЮМЭ

Пашынская Кацярына Сяргееўна

Пашкоджанне наследнага апарата саматычных і эмбрыянальных клетак гаспадара пры трыхінелёзе ў час цяжарнасці

Ключавыя словы: трыхінелёз, генатаксічнасць, цытатаксічнасць, эмбрыётаксічнасць, геном, камбінаваная тэрапія

Мэта работы: выявіць пашкоджанні наследнага апарата саматычных клетак самак мышападобных грызуноў і іх эмбрыёнаў пры трыхінелёзе ў залежнасці ад стадыі развіцця паразіта і тэрмінаў цяжарнасці гаспадара, пры камбінаванай тэрапіі, а таксама ўстанавіць генатаксічныя і цытатаксічныя змяненні ў саматычных клетках чалавека да і пасля лячэння трыхінелёзу.

Метады даследавання: паразіталагічныя, цытагенетычныя, біяхімічныя, статыстычныя.

Атрыманыя вынікі: метабаліты *Trichinella spiralis* у час цяжарнасці гаспадара валодаюць гена- і цытатаксічнымі ўздзеяннямі на саматычныя і эмбрыянальныя клеткі, выклікаючы рост колькасці пашкоджаных ядзернай ДНК у клетках коснага мозгу і эмбрыёнаў на 7-8,2 %, ліку апататычных клетак ў 5,8-11 разоў, а таксама ліку клетак з мікраядрамі. Трыхінелёз у чалавека суправаджаецца ростам пашкоджаных ядзернай ДНК лімфацытаў да 9,8% і колькасці апататычных клетак у 38,8 раза. Трыхінелы выклікаюць павышэнне прад- і постімплантацыйнай гібелі эмбрыёнаў у 5-12 разоў, памяншэнне іх масы і памераў у 1,07-1,60 разоў, парушаюць антэнатальнае развіццё патомства мышападобных грызуноў. Увядзенне бялковага прадукта лічынак *T. spiralis* валодае гена-, цыта- і эмбрыётаксічнымі эфектамі ў клетках коснага мозгу цяжарных самак пацукоў і іх эмбрыёнаў. Трыхінелёзная інвазія суправаджаецца паніжэннем утрымання вітамінаў А, С, Е, В₁, правітамінамі караціну, канцэнтрацыяй марганцу, жалеза, кобальту, селену ў тканках эмбрыёнаў самак пацукоў. Тэрапія эксперыментальнага трыхінелёзу альбендазолам ці мебендазолам у спалучальнасці з імбупрафенам, фенкаролам і комплексам вітамінаў антыаксідантаў С, Е і β-караціну з селенам эфектыўна ахоўвае геном саматычных і эмбрыянальных клетак гаспадара і нейтралізуе дысбаланс вітамінаў і мінералаў у эмбрыянальных тканках.

Навізна даследавання заключаецца ва ўстанавленні ўздзеяння метабалітаў трыхінелаў на наследны апарат эмбрыянальных клетак, развіццё зародкаў мышападобных грызуноў і эксперыментальным абгрунтаванні метаду камбінаванага лячэння трыхінелёзу.

Ступень выкарыстання: у навучальным працэсе медыцынскіх універсітэтаў і ў лячэбных установах дзяржавы.

Галіна выкарыстання: агульная і медыцынская паразіталогія, навуковы працэс.

РЕЗЮМЕ

Пашинская Екатерина Сергеевна

Повреждения наследственного аппарата соматических и эмбриональных клеток хозяина при трихинеллезе во время беременности

Ключевые слова: трихинеллез, генотоксичность, цитотоксичность, эмбриотоксичность, геном, комбинированная терапия

Цель работы: выявить повреждения наследственного аппарата соматических клеток самок мышевидных грызунов и их эмбрионов при трихинеллезе в зависимости от стадии развития паразита и сроков беременности хозяина, при комбинированной терапии, а также установить генотоксические и цитотоксические изменения в соматических клетках человека до и после лечения трихинеллеза.

Методы исследования: паразитологические, цитогенетические, биохимические, статистические.

Полученные результаты: метаболиты *Trichinella spiralis* во время беременности хозяина обладают гено- и цитотоксическим воздействием на соматические и эмбриональные клетки, вызывая рост количества поврежденной ядерной ДНК в клетках костного мозга и эмбрионов на 7–8,2%, числа апоптотических клеток в 5,8–11 раз, а также числа клеток с микроядрами. Трихинеллез у человека сопровождается ростом поврежденной ядерной ДНК лимфоцитов до 9,8% и числа апоптотических клеток в 38,8 раза. Трихинеллы вызывают повышение пред- и постимплантационной гибели эмбрионов в 5–12 раз, уменьшение их массы и размера в 1,07–1,60 раза, нарушают антенатальное развитие потомства мышевидных грызунов. Введение белкового продукта личинок *T. spiralis* обладает гено-, цито- и эмбриотоксическим эффектами в клетках костного мозга беременных самок крыс и их эмбрионов. Трихинеллезная инвазия сопровождается снижением содержания витаминов А, С, Е, В₁, провитамина каротина, концентраций марганца, железа, кобальта, селена в тканях эмбрионов самок крыс. Терапия экспериментального трихинеллеза альбендазолом или мебендазолом в сочетании с ибупрофеном, фенкаролом и комплексом витаминов антиоксидантов С, Е и β-каротина с селеном эффективно защищает геном соматических и эмбриональных клеток хозяина и нейтрализует дисбаланс витаминов и минералов в эмбриональных тканях.

Новизна исследования состоит в установлении влияния метаболитов трихинелл на наследственный аппарат эмбриональных клеток, развитие зародышей мышевидных грызунов и экспериментальном обосновании метода комбинированного лечения трихинеллеза.

Рекомендации по использованию: в учебном процессе медицинских университетов и в лечебных учреждениях.

Область применения: общая и медицинская паразитология, учебный процесс.

SUMMARY

Pashinskaya Ekaterina Sergeevna

Damage of the hereditary apparatus of the host somatic and embryonic cells at trichinosis during pregnancy

Key words: trichinellosis, genotoxicity, cytotoxicity, embryotoxicity, genome, combined therapy.

Objective of the research: to reveal damages of the hereditary apparatus of the somatic cells in female rodents and their embryos at trichinellosis depending on the stage of the parasite's development and host's pregnancy terms at application of the combined therapy as well as to establish genotoxic and cytotoxic changes in the human somatic cells prior and after trichinellosis treatment.

Methods of research: parasitology, cytogenetic, biochemical, statistical.

Obtained results: metabolites of *Trichinella spiralis* during host's pregnancy produce geno- and cytotoxic effects on the somatic and embryonic cells causing 7-8,2% increase of the damaged nuclear DNA number in the bone marrow cells and embryos and 5,8-11 times increase of apoptotic cells as well as the cells with micronuclei. Trichinellosis in humans is accompanied by the increase of the damaged nuclear DNA of lymphocytes up to 9,8% and 38,8 times increase of the apoptotic cells number. *Trichinella* cause a rise in pre- and postimplantation death of embryos in 5-12 times, 1,07-1,60 times reducing their weight and size, they disturb the prenatal development of the rodents' offspring. The protein product of the larvae of *T. spiralis* causes geno- and cyto- and embryotoxic effects in the bone marrow cells of pregnant female rats and their embryos when it is administered. Trichinellosis invasion is accompanied by the reduction in vitamins A, C, E, B₁, provitamin carotene, concentrations of manganese, iron, cobalt, and selenium in the embryo tissues of female rats. Therapy of the experimental trichinellosis with albendazole or mebendazole in combination with ibuprofen, fenkarol and the complex of vitamin antioxidants C, E and β -carotene with selenium effectively protects the somatic and embryonic genome of host cells and neutralizes the imbalance of vitamins and minerals in the embryonic tissues.

Novelty of the research is in determining the impact of trichinella metabolites on the hereditary apparatus of the embryonic cells, development of the rodent embryos as well as in the experimental justification of the combined treatment method of trichinosis.

Recommendations for use: during the educational process at medical universities and medical establishments.

Area of application: general and medical parasitology, educational process.

Подписано в печать 14.11.12г. Формат бумаги 64х84 1/16. Бумага типографская № 2.
Гарнитура «Times New Roman».

Усл.печ. л./51. Тираж 60 экз. Заказ № 231

Издатель и полиграфическое исполнение УО «Витебский государственный
медицинский университет» ЛИ № 02330/0549444 от 8.04.09.
Отпечатано на ризографе в Витебском государственном медицинском университете
210602, Витебск, пр. Фрунзе 27. Тел. (8-0212)261966

Библиотека ВГМУ

